

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-318101

(43)Date of publication of application : 16.11.2001

(51)Int.Cl.

G01N 33/543

(21)Application number : 2000-176118

(71)Applicant : ARKRAY INC

(22)Date of filing : 08.05.2000

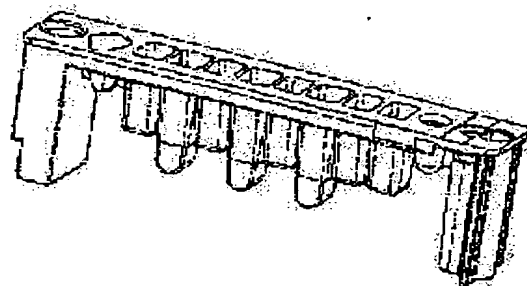
(72)Inventor : OKUBO AKIO
TAKAHATA ICHIRO
OSHIRO KYOICHI
OTA HIROMASA

(54) CARTRIDGE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a cartridge which eliminates a need or introducing a cleaning liquid from the outside when a measurement by an apparatus is completely automated by a method wherein a reagent which is required for immunoassay is sealed in one cartridge.

SOLUTION: The cartridge comprises a reaction tank in which an immune agglutination reaction is performed. The cartridge comprises a plurality of storage tanks into which all reagents used for the immune agglutination reaction are filled independently. In the cartridge, the cleaning liquid is sealed into the storage tanks. The cleaning liquid cleans the inner wall of a pipette tip.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-318101

(P2001-318101A)

(43) 公開日 平成13年11月16日 (2001. 11. 16)

(51) Int.Cl.⁷

G 0 1 N 33/543

識別記号

5 3 1

5 2 1

5 4 5

5 8 1

F I

G 0 1 N 33/543

テマコード^{*}(参考)

5 3 1

5 2 1

5 4 5 B

5 8 1 A

審査請求 未請求 請求項の数9 書面 (全 6 頁)

(21) 出願番号

特願2000-176118(P2000-176118)

(22) 出願日

平成12年5月8日(2000. 5. 8)

(71) 出願人 000141897

アークレイ株式会社

京都府京都市南区東九条西明田町57番地

(72) 発明者 大久保 章男

京都府京都市南区東九条西明田町57番地

株式会社京都第一科学内

(72) 発明者 高畑 一郎

京都府京都市南区東九条西明田町57番地

株式会社京都第一科学内

(72) 発明者 大代 京一

京都府京都市南区東九条西明田町57番地

株式会社京都第一科学内

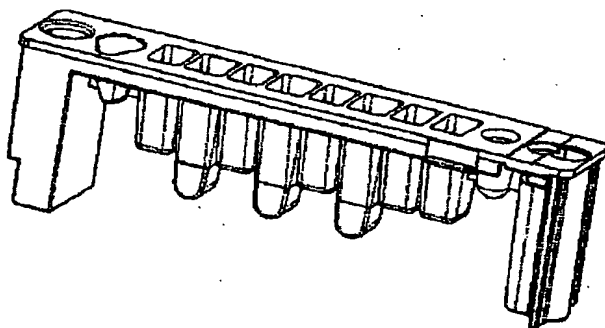
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 カートリッジ

(57) 【要約】

【課題】 免疫測定に必要な試薬が一つのカートリッジに封入されており、装置による測定の完全自動化を実施する際に、外部からの洗浄液導入を不要とする。

【解決手段】 免疫凝集反応を行う反応槽と、前記免疫凝集反応に用いる全ての試薬を独立して充填するための複数の格納槽とを有し、さらに洗浄液を格納槽へ封入したカートリッジである。当該洗浄液は、ピペットチップの内壁を洗浄する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 免疫反応を行う反応槽と、前記免疫反応に用いる試薬を充填するための複数の格納槽とを有し、検体中に存在する微量成分を自動的に定量する自動測定装置に組み込んで用いるカートリッジであって、前記自動測定は、前記検体中の微量成分との特異的反応性を有する免疫学的物質を用いて行う免疫反応と、該免疫反応に基づく凝集塊に対する光学的測定とからなるものであり、前記反応槽は、その内部に前記免疫学的物質を有するものであり、前記複数の格納槽は、その内部に、独立して、前記免疫反応に必要な試薬のすべてを充填してなるものであることを特徴とするカートリッジ。

【請求項2】 必要な試薬の全てが溶液状で充填されている特許請求の範囲第1項に記載のカートリッジ。

【請求項3】 必要な試薬の一部が凍結乾燥品で充填され、使用時に溶液状へ戻される特許請求の範囲第1項に記載のカートリッジ。

【請求項4】 前記複数の格納槽は、光学的測定用の測光セルを兼ねていることを特徴とする、特許請求の範囲第1項に記載のカートリッジ。

【請求項5】 さらに、反応が終了した廃液を廃棄するための廃棄槽を有する、特許請求の範囲第1または4項に記載のカートリッジ。

【請求項6】 廃棄槽は、使用済みの格納槽を流用するものである、特許請求の範囲第5項に記載のカートリッジ。

【請求項7】 さらに、検体の入ったキュベットをドッキングすることができる、特許請求の範囲第1項に記載のカートリッジ。

【請求項8】 前記免疫学的物質は担体表面に担持されている、特許請求の範囲第1項に記載のカートリッジ。

【請求項9】 担体は、直径0.1～0.7 μ mのラテックス微粒子である特許請求の範囲第8項に記載のカートリッジ。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】 本発明は、検体中に存在する微量成分を自動的に定量する自動免疫測定装置に組み込んで用いるカートリッジに関する。

【0002】

【従来の技術】 ヒトの血液等の体液中の微量成分を定量することにより、病気の診断や治療に役立たせようとするいわゆる診断薬の分野において、従来から、種々の特異選択的反応が利用されている。このような特異選択的反応は、血液等の体液を検体とし、この中に存在する疾病マーカー等の微量成分の量を測定することを目的とするものであり、例えば、抗原抗体反応等が挙げられる。また、このような抗原抗体反応を利用することにより、いわゆる免疫測定法等が行われている。

【0003】 このような免疫測定法のなかでも、免疫凝

集反応を利用した測定方法は、操作が簡易な測定法として汎用されている。この測定方法は、検体中の測定対象物に対して特異選択的反応性を有する物質（抗体又は抗原等）と測定対象物が直接に凝集塊を生じる免疫比濁法と、検体中の測定対象物に対して特異選択的反応性を有する物質をラテックス微粒子の如き担体の表面に担持させておき、しかる後にこの微粒子を含有する液と検体液とを接触させることにより、特異選択的反応を生じせしめて凝集塊を生じさせるラテックス凝集法があり、いずれも凝集塊により変化する吸光度を測定するものである。

【0004】 近年、この分野での改良が進み、現在では免疫測定法の工程のすべてを自動的に行う自動測定装置が盛んになってきている。

【0005】 特開平63-281053号公報には、繊維状のマトリックスを有する反応ウェル、試料ウェル等の複数のウェルを有する容器を用いて行う固相法による自動免疫測定法が開示されている。しかしながら、この方法においては、使用するカートリッジのほかに、免疫測定に必要な試薬を供給する装置が必須であり、測定対象となる物質の変更に伴って供給試薬を変更する必要となり、自動化のための装置の構成が複雑になる問題があった。

【0006】 特開平4-218775号公報には、複数の開口を有し、少なくとも開口のひとつが固相を有する容器を用いた自動免疫測定法が開示されている。しかしながらこの技術は、本来的に固相が磁性粒子である技術に関するものであり、汎用性に乏しい欠点があるうえ、必ずしも操作性が良好なものではなかった。

【0007】 特開平11-316226号公報には、反応を行う反応槽と、試薬が充填された複数の格納槽とを有し、酵素標識免疫測定法や放射免疫測定法に用いられる抗体感作担体を含み、格納槽の内部に必要な試薬のすべてを溶液状にして充填してなるカートリッジが開示されている。しかしながらこのカートリッジは、全ての試薬をバック化しているにもかかわらず、洗浄液のみは外部から供給するものであり、必ずしも操作性が良好なものではなかった。

【0008】 従来の方法はいずれも、複数のウェルを有する容器を用いる免疫測定法であり、測定の自動化を目的としたものである。しかしながら、これらの方法は、容器中に測定に必要な試薬を一部しか保有していないか、全く保有していないため、容器とは別に、測定に必要な試薬を別途用意する必要があり、自動化にあっても装置の構成が複雑になる等の問題があった。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】 そこで本発明は、上記に鑑み、自動測定装置に組み込むためのカートリッジであって、一検体につき完全一カートリッジ方式で測定を簡便に行うことのできるカートリッジを提供することを

目的とするものである。

【0010】

【課題を解決するための手段】本発明は、免疫反応を行う反応槽と、前記免疫反応に用いる試薬を充填するための複数の格納槽とを有し、検体中に存在する微量成分を自動的に定量する自動測定装置に組み込んで用いるカートリッジであって、前記自動測定は、前記検体中の微量成分との特異的反応性を有する免疫学的物質を用いて行う免疫反応と、該免疫反応に基づく凝集塊に対する光学的測定とからなるものであり、前記反応槽は、その内部に前記免疫学的物質を有するものであり、前記複数の格納槽は、その内部に、独立して、前記免疫反応に必要な試薬のすべてを充填してなるものであることを特徴とするカートリッジである。以下に本発明を詳述する。

【0011】

【発明の実施の形態】本発明は、検体中に存在する微量成分を自動的に定量する自動測定装置に組み込んで用いるカートリッジである。上記カートリッジ全体の形状は、反応槽と複数の格納槽とを有していれば特に限定されず、例えば、反応槽と複数の格納槽とが並列的に並んで存在する舟型のもの等が挙げられる（図1参照）。

【0012】上記カートリッジの大きさは特に限定されないが、自動測定装置に組み込んで用いるためには、より小型であることが好ましく、例えば、長さ1~10cm、高さ0.5~5cm、厚さ0.3~3cm程度のもの等が挙げられる。

【0013】上記反応槽と複数の格納槽の大きさや形状は、後述するような反応及び試薬の格納を行うことができるウェル状のものであれば特に限定されないが、例えば、直径1~10mm程度の円筒型のものや直方体型のもの等が好ましい。これらは、上記カートリッジを穿つようにして構成することができる。ウェル自体の形状は、円筒状でも角柱状でもよく、底面は円弧状でも角状でもよい。本発明においては、ウェルにおいて進行する特異的反応をウェル外から光学的に観察するため、該ウェルの側面の少なくとも一部分に該当するカートリッジ部分が光透過性物質で形成されていることが望ましい。

【0014】上記光透過性物質で形成されているウェルは、光学測定における測光セルに相当するが、使用前に試薬が充填されている複数の格納槽で兼ねてもよい。

【0015】上記カートリッジの反応槽と格納槽とは、異物の混入を避けるためには、その上部をシールされていることが好ましく、このようなシールとしては、例えば、アルミニウム箔や高分子フィルム等を、例えば、ホットメルト型接着剤でカートリッジ上部表面に接着させたもの等が挙げられる。アルミニウム箔によるシールは、自動測定装置に備えられたシールブレイカー等により容易に破られることができ、かつ密封性も良好であることから好ましい。

【0016】上記カートリッジの素材としては、反応槽

中で行われる特異的反応を阻害する物質で無いことを除いて特に限定されないが、例えば、ポリスチレン樹脂、ポリエチレン樹脂、ポリプロピレン樹脂等の、安価で成形の容易なもの等が挙げられる。例えば、透明なポリスチレン樹脂だと直接分光高度計で吸光度を測定できるようにすることができる。

【0017】また、一連の反応並びに測定が終了した際に発生する液体（廃液）を、廃棄するための廃棄槽を設けることができる。このような廃棄槽を設けることにより、測定作業の後始末を簡単に行うことができる。廃棄槽は、上記複数の格納槽のうち、測定作業中に空になる格納槽を流用するもので良く、もちろん別に単独に設けてもよい。

【0018】また、本発明のカートリッジは、検体液が入ったキュベットをドッキングする機構を有しても良い。通常、自動測定装置へはカートリッジとは別に、遠心分離等の前処理が終了した検体液が入ったキュベット容器もセッティングされる。そうして、測定装置は検体容器から検体液を採取し、カートリッジ内での反応へ供する。本発明の如き機構を有すると、自動測定装置内のスペースを有効利用することが出来、装置の小型化が期待できる。

【0019】上記検体とは、例えば、ヒトの血液等の体液等が挙げられる。検体中の微量成分とは、免疫学的に定量測定することによりヒトの病気の診断・治療に役立てることができるものであり、例えば、肝炎ウイルス、リウマチ因子、C反応性蛋白、溶血性連鎖球菌毒素、各種酵素等といった、疾病マーカーが挙げられる。

【0020】さて、本発明のカートリッジは、その内部において、免疫反応を励起させることにより凝集塊を生じせしめ、その凝集塊に対する光学的変化を読みとることで検体中の微量成分を測定するものである。

【0021】上記免疫学的物質としては、上記微量成分との特異的免疫反応性を有するものであれば特に限定されず、例えば、上に例示した微量成分の抗体等が挙げられ、これらの抗体はモノクローナル抗体であってもポリクローナル抗体であってもよく、さらに抗体の分解物であってもよい。

【0022】免疫学的物質は、担体を必要としない場合と、担体に担持されて反応に供する場合を適宜選択することができる。担体を用いる場合、本発明においては、上記担体は上記反応槽の内部に存在する。上記担体は、固体であることが好ましく、より好ましくは、微粒子状のビーズであり、更に好ましくは、ポリスチレン製のラテックスビーズである（以下、上記免疫学的物質を担持した担体を、感作担体として呼称することもある）。担体上へ免疫学的物質を担持させた場合、免疫凝集法を原理とした特異反応をさせることで当該担体同士を凝集させる。

【0023】担体となる上記ラテックス微粒子の大きさ

としては、免疫凝集法にて汎用される、例えばポリスチレンにポリエチレンをグラフト共重合させた平均粒径0.01~5 μ mのラテックス微粒子が好ましく、より好ましくは直径0.1~0.7 μ mである。

【0024】上記ラテックス微粒子に上記免疫学的物質を担持させる（感作させる）方法としては特に限定されず、例えば、従来公知の物理吸着法又は化学結合法等が使用できる。

【0025】本発明のカートリッジの複数の格納槽は、その内部に、独立して、免疫比濁法に関して必要な試薬のすべてが溶液状にして充填されている。上記「独立して」とは、複数の格納槽のそれぞれに、一つずつ別個の試薬が充填されていてもよく、一つの格納槽に複数の試薬が充填されていてもよく、更には、何も充填されていない格納槽が存在していてもよいことを意味する。「溶液状」とは、一部の試薬が凍結乾燥品としてパックされており、使用時に、同じく充填されている緩衝液等で溶液化されることも包含される。

【0026】そうして、上記複数の格納槽には、特異選択的反応及び標識物質との反応に必要な試薬のすべてが充填されており、上記格納槽内に存在する試薬のみによって一連の免疫反応を完結させることができる点に本発明の要旨がある。

【0027】このようにカートリッジ化することで試薬の無駄がなくなり、測定対象が変更されるたびに試薬を調製する必要もなくなる。すなわち、測定対象物質を決定すると同時に、用いるカートリッジを決定すればよく、例えば、C反応性蛋白用カートリッジ、リウマチ因子用カートリッジというように、測定対象物質ごとにカートリッジを独立して作製し、適用することができるので、試薬混同に基づく測定誤認が皆無となる。

【0028】もちろん、一つのカートリッジ内の複数の格納槽のそれぞれに、例えばC反応性蛋白測定用とリウマチ因子測定用の試薬を独立して封入することで、複数項目を同時に測定することも可能である。その場合、自動測定装置側における演算回路を書き込み自由にしておき、測定シーケンスを自在に変更できるようにすればよい。

【0029】本発明のカートリッジの反応槽には、適切な方法により、検体液が導入される。例えば、本発明のカートリッジへ直接に手技により検体を導入してから測定装置へキュベットをセットしても良く、検体液が入ったキュベットを装置側へセットしても良く、先述のように、本発明のカートリッジへ検体液が入ったキュベットをドッキングさせても良い。上記検体液は、既に上述したようにヒトの血液等である。

【0030】上記検体液中に存在する微量成分は、上記免疫学的物質、又は上記免疫学的物質を担持した担体（ラテックスビーズ）と接することにより、上記反応槽内において、免疫反応を生じる。免疫反応を生じること

で、例えばビーズ間の凝集が開始され、光学的測定に供することができる。

【0031】上記免疫反応を良好に進行させるためには、上記検体液の他、上記反応槽内にラテックスビーズ等を懸濁するための緩衝液を導入することが好ましい。本発明においては、上記緩衝液は、反応に必要な試薬として、上記格納槽内に充填させておく。上記緩衝液としては特に限定されず、通常抗原抗体反応等に用いられる緩衝液を用いることができ、例えば、0.1%牛血清アルブミン含有リン酸緩衝液等が挙げられる。

【0032】上記懸濁用緩衝液の他、全血試料を検体とする場合には、血球成分を破壊するための溶血剤入り緩衝液（ラテックス懸濁用緩衝液と区別するために、以下希釈液と呼称することもある）を格納槽内に充填しておくこともできる。溶血剤の種類としては、サポニンが好ましく使用できる。

【0033】全血試料を検体とする場合、赤血球中に含まれるヘモグロビンのために、測定結果に誤差を生じる可能性が高い。そのため、ヘモグロビンを定量測定するための試薬を充填する格納槽を用意し、検体測定時と同時にヘモグロビン濃度を算出し、得られたヘモグロビン濃度を用いてヘマトクリット値を算出し、検体測定値を補正することもできる。

【0034】上記特異選択的反応が終了し、光学的測定が終了した後、上記検体液と上記緩衝液との残留混合物は、例えば、アスピレーター等により反応槽外に廃液として排除される。廃液は、先述のように、廃棄槽に廃棄される。

【0035】本発明においては、上記格納槽内に充填する試薬（複数種類）は、それぞれ溶液状である。溶液状としているために、格納槽から反応槽への導入が、ピペットによる単一の操作で簡便に行うことができる。

【0036】溶液を吸引・吐出するためのピペットは、コンタミネーションを防止するために、ピペット内部を洗浄液等により洗浄されることが好ましい。該洗浄液については、本発明のカートリッジのいずれかの場所に納めた実施形態とすることが可能であり、本発明の特徴とする。

【0037】免疫測定における未反応成分を洗浄するための作業、いわゆるB/F分離に必要とされる洗浄液は、大量であることが通常であり、かつ、測定対象となる微量成分の種類によって変える必要がない物質であるので、カートリッジ内に納めることなく、自動測定装置の一部の装置から供給されることが通常とされる。

【0038】しかし、本発明のカートリッジは免疫凝集反応用であり、免疫凝集反応にはB/F分離を必要としない。故に大量の洗浄液を必要とせず、ピペット洗浄用の洗浄液のみに特化することで、洗浄液をもカートリッジ内に封じること成功したのである。

【0039】上記洗浄液としては上記免疫凝集反応に影

響を与えないものであれば特に限定されず、例えば、生理食塩水、脱イオン水等が挙げられる。

【0040】本発明においては、上記ラテックス懸濁液、溶血用希釈液、洗浄液の各液状試薬を格納槽に入れる際に、それぞれを別の格納槽に充填することが好ましい。

【0041】上記格納槽の数は、溶液状試薬の数、操作性及び簡便性により適宜決めることができるが、通常、2～10個、より好ましくは、3～8個である。各格納槽への充填例として、図2に示す。図のように、空の格納槽を用意し、測定する検体を入れる場所や検体を希釈するために使用することもできる。

【0042】

【実施例】以下に図面を参照して本発明を詳細に説明する。図2は本発明のカートリッジの構成を示す一例である。本発明を実施するにあたり使用するカートリッジは、セル（A、B、C）と、ウェル（1～6）を有する。セルとは測光を行うための反応槽であり、ウェルとは格納槽を意味する。

【0043】これらのセル・ウェルの他に、カートリッジ使用前はピペティング作業を行うための使い捨てピペットチップを包含する槽であり、使用後は廃棄槽になる槽を有する。

【0044】また、使用者がカートリッジへ検体を直接に注入する際に用いる検体槽と、汎用の小型チューブ等に入った検体をチューブごとカートリッジへセットするためのキュベットを有する。カートリッジ付属の検体槽と、検体チューブ間の変更は任意であり、装置側ヘシークエンス変更を指示することで容易に達成できる。

【0045】カートリッジの使用前では、検体槽とウェル1とセルABCと廃棄槽は空である。ウェル2にはヘモグロビン補正を行うためのヘモグロビン測定試薬が、ウェル3には溶血用希釈液（サポニン含有生理食塩水）が、ウェル4には緩衝液が、ウェル5にはチップ洗浄液（蒸留水）が、ウェル6にはラテックス懸濁液が、それぞれ充填封入されている。項目により試薬種類が変化するため、余分のセル・ウェルの位置関係は変化する。

【0046】カートリッジの検体槽へ検体である全血を注入し、カートリッジを装置へセットすると、次のような測定手順が自動的に行われる。

【0047】装置内のシールブレイカー兼用のピペットノズルの鋭利な先端部により、カートリッジのラミネートシールが破られた後、装置側のピペットノズルと、カートリッジに包含されているピペットチップがドッキングする。

【0048】次に、ピペット動作により、ウェル3からウェル1へ生理食塩水 $95\mu\text{l}$ ×2回、合計 $190\mu\text{l}$ の分注が行われる。

【0049】次に、ウェル4からセルBへ緩衝液が $84\mu\text{l}$ 分注される。

【0050】次に、ウェル2からセルAへ、ヘモグロビン測定試薬が $77\mu\text{l}$ ×2回、合計 $154\mu\text{l}$ の分注で行われる。

【0051】次に、ウェル3に残った生理食塩水で $110\mu\text{l}$ の吸引吐出が2回行われたあと、ウェル5の蒸留水 $50\mu\text{l}$ が廃棄槽へ移送されることによりチップが洗浄される。

【0052】次に、検体槽の検体 $10\mu\text{l}$ がウェル1に分注され、 $110\mu\text{l}$ での吸引吐出が5回行われ、攪拌・混合・希釈が行われる。

【0053】ウェル3に残った生理食塩水で $110\mu\text{l}$ の吸引吐出が2回行われたあと、ウェル5の蒸留水 $50\mu\text{l}$ が廃棄槽へ移送されることによりチップが洗浄される。

【0054】次に、ウェル1の希釈検体 $28\mu\text{l}$ がセルAに分注され、 $110\mu\text{l}$ での吸引吐出が5回行われ、攪拌・混合される。このとき吸光度変化が検出され、ヘモグロビン濃度が測定される。得られたヘモグロビン濃度からヘマトクリット値を算出する。

【0055】一方、ウェル4に残った緩衝液で $110\mu\text{l}$ の吸引吐出が2回行われたあと、ウェル5の蒸留水 $50\mu\text{l}$ が廃棄槽へ移送されることによりチップが洗浄される。

【0056】次に、ウェル1の希釈検体 $48\mu\text{l}$ がセルBに分注され、 $85\mu\text{l}$ での吸引吐出が5回行われ、攪拌・混合される。ウェル5に残った蒸留水で $110\mu\text{l}$ の吸引吐出が2回行われたあと、ウェル5の蒸留水 $110\mu\text{l}$ が廃棄槽へ移送されることによりチップが洗浄される。

【0057】次に、ウェル6のラテックス液 $28.2\mu\text{l}$ がセルBに分注され、 $110\mu\text{l}$ での吸引吐出が3回行われ、攪拌・混合される。このとき吸光度変化が検出され、目的とする成分濃度が測定される。

【0058】最後に、得られた成分濃度と、同時に得られたヘマトクリット値から、成分濃度の補正が行われる。

【0059】以上に説明したそれぞれの操作を、装置側により自動化することで、連続して検体を測定する自動測定法を実施することが可能である。ピペット操作を装置側により自動化する方法及び装置の構成は、測定の目的、カートリッジの形状等に合わせて自由に変更することができ、特に制限はない。

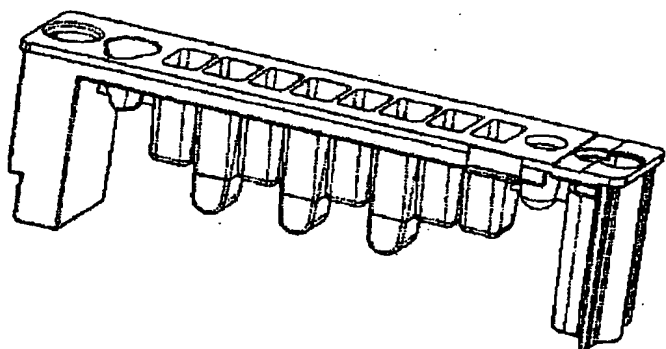
【0060】

【発明の効果】本発明によれば、洗浄液をも含めた、測定に必要な試薬が一つのカートリッジに封入されているため、装置による測定の自動化が実施しやすく、一つの測定対象物質に対して、一つのカートリッジですべて対応することができ、従って試薬の無駄がなくなり、試薬管理が極めて簡便で容易となり、簡便で迅速な測定が可能となり、臨床検査の分野に大きな貢献をする。

【図面の簡単な説明】

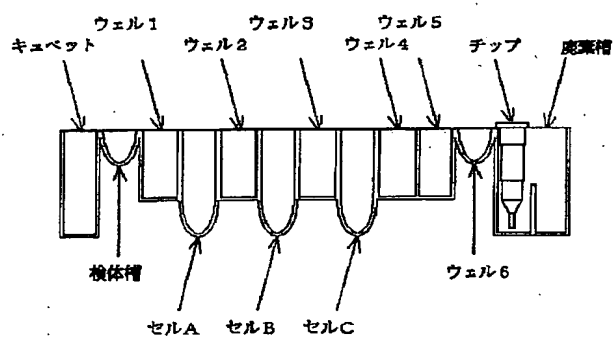
【図1】本発明のカートリッジの一実施形態を示す斜視図である。

【図1】



【図2】本発明のカートリッジの一実施形態を示す断面図である。

【図2】



フロントページの続き

(72) 発明者 太田 浩正
京都府京都市南区東九条西明田町57番地
株式会社京都第一科学内